



Efek Minyak Atsiri Bawang Putih (*Allium sativum*) terhadap Jumlah Monosit pada  
Darah Tepi Tikus Wistar yang Diberi Diet Kuning Telur

LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN KARYA TULIS ILMIAH

Diajukan untuk memenuhi tugas dan melengkapi syarat  
dalam menempuh Program Pendidikan Sarjana  
Fakultas Kedokteran

Disusun Oleh

Gestana Andru  
G2A 005 079

FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG  
2009

## HALAMAN PERSETUJUAN

Telah disetujui oleh Dosen Pembimbing, Laporan Akhir Penelitian Karya Tulis

Ilmiah atas nama mahasiswa:

Nama : Gestana Andru

NIM : G2A005079

Fakultas : Kedokteran

Universitas : Diponegoro

Bagian : Biokimia

Judul : **Efek Minyak Atsiri Bawang Putih (*Allium sativum*) terhadap Jumlah Monosit pada Darah Tepi Tikus Wistar yang Diberi Diet Kuning Telur**

Pembimbing : dr. Innawati Jusup, MKes

Diajukan untuk memenuhi tugas dan melengkapi persyaratan dalam menempuh Program Pendidikan Sarjana Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

Semarang, 11 Agustus 2009

Pembimbing

dr. Innawati Jusup, MKes

NIP. 131993338

## HALAMAN PENGESAHAN

Laporan Akhir Penelitian Karya Tulis Ilmiah

**Efek Minyak Atsiri Bawang Putih (*Allium sativum*) terhadap Jumlah Monosit pada Darah Tepi Tikus Wistar yang Diberi Diet Kuning Telur**

yang disusun oleh:

Gestana Andru

G2A 005 079

telah dipertahankan dihadapan Tim Penguji Laporan Akhir Penelitian Karya Tulis Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro pada tanggal 15 Agustus 2009 dan telah diperbaiki sesuai dengan saran-saran yang diberikan.

### TIM PENGUJI LAPORAN

Penguji,

Pembimbing,

dr.Akhmad Ismail, M.Si.Med  
NIP. 132163894

dr.Innawati Jusup, M.Kes  
NIP. 131993338

Ketua Penguji,

dr. Dodik Pramono, M.Si.Med  
NIP. 132151947

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PERSETUJUAN</b> .....	ii
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	iii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	iv
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	viii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	ix
<b>ABSTRAK BAHASA INDONESIA</b> .....	x
<b>ABSTRAK BAHASA INGGRIS</b> .....	xi
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1. Latar belakang masalah .....	1
1.2. Rumusan masalah .....	2
1.3. Tujuan penelitian .....	3
1.3.1. Tujuan penelitian umum .....	3
1.3.2. Tujuan penelitian khusus .....	3
1.4. Manfaat penelitian .....	3
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
2.1. Lipid .....	4
2.1.1. Definisi dan fungsi .....	4
2.1.2. Harga normal lipid .....	4
2.1.3. Hiperlipidemia .....	5

2.1.4. Diet kuning telur .....	5
2.2. Kolesterol .....	6
2.2.1. Definisi dan fungsi .....	6
2.2.2. Biosintesis dan transpor .....	6
2.3. Lipoprotein .....	7
2.3.1. Low density lipoprotein .....	8
2.4. Cedera endotel .....	9
2.5. Monosit .....	9
2.5.1. Definisi dan fungsi .....	10
2.6. Minyak atsiri .....	11
2.6.1. Definisi dan sifat .....	11
2.6.2. Komposisi kimia .....	11
2.6.3. Ekstraksi .....	12
2.6.4. Minyak atsiri bawang putih ( <i>Allium sativum</i> ) .....	13
2.7. Kerangka teori .....	15
2.8. Kerangka konsep .....	16
2.9 Variabel penelitian .....	16
2.9.1. Variabel bebas .....	16
2.9.2. Variabel tergantung .....	16
2.10. Definisi operasional variabel .....	16
2.10.1. Minyak atsiri bawang putih ( <i>Allium sativum</i> ) .....	16

2.10.2. Diet kuning telur .....	17
2.10.3. Jumlah monosit .....	17
2.11. Hipotesis penelitian .....	17
<b>BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN .....</b>	<b>18</b>
3.1. Ruang lingkup penelitian .....	18
3.1.1. Ruang lingkup keilmuan .....	18
3.1.2. Ruang lingkup waktu .....	18
3.1.3. Ruang lingkup tempat .....	18
3.2. Jenis penelitian .....	18
3.3. Populasi dan sampel penelitian .....	19
3.3.1. Populasi penelitian .....	19
3.3.2. Sampel penelitian .....	20
3.3.2.1. Kriteria inklusi .....	20
3.3.2.2. Kriteria eksklusi .....	20
3.3.2.3. Besar sampel .....	20
3.3.2.4. Cara pengambilan sampel .....	21
3.4. Alat dan bahan .....	21
3.4.1. Alat .....	21
3.4.2. Bahan .....	21
3.7. Cara kerja .....	22
3.8. Alur penelitian .....	23

3.9. Analisis data .....	24
<b>BAB 4 HASIL PENELITIAN .....</b>	<b>25</b>
<b>BAB 5 PEMBAHASAN .....</b>	<b>26</b>
<b>BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>31</b>
<b>6.1. Kesimpulan .....</b>	<b>31</b>
<b>6.2. Saran .....</b>	<b>31</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>32</b>

## **DAFTAR TABEL**

Tabel 1 Analisa deskriptif hasil hitung jenis monosit .....	28
-------------------------------------------------------------	----



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Kadar kolesterol menurut NCEP ATP III.....	36
Lampiran 2 Hasil analisa menggunakan SPSS 15.0 .....	37
Lampiran 3 Cara pembuatan dan pemeriksaan preparat darah hapus .....	40
Lampiran 4 Penentuan dosis minyak atsiri <i>Allium sativum</i> .....	43

## Efek Minyak Atsiri Bawang Putih (*Allium sativum*) terhadap Jumlah Monosit pada Darah Tepi Tikus Wistar yang Diberi Diet Kuning Telur

Gestana Andru<sup>1</sup>, Innawati Jusup<sup>2</sup>

### ABSTRAK

**Latar Belakang:** Minyak atsiri bawang putih (*Allium sativum*) mengandung diallyl polysulfide. Dari beberapa literatur dikatakan bahwa senyawa tersebut mampu menekan respon inflamasi dari cedera endotel dengan menghambat pembentukan radikal lipid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek minyak atsiri bawang putih terhadap jumlah monosit pada darah tepi sebagai penanda inflamasi dari cedera endotel.

**Metoda:** Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan rancangan *Post Test Only Control Group Design*. Sampel terdiri dari 21 ekor tikus wistar jantan 8 minggu diadaptasi selama satu minggu kemudian dirandomisasi secara sederhana menjadi 3 kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif (K1), kelompok kontrol positif (K2), dan kelompok perlakuan (P). Kelompok K1 hanya diberi pakan standar BR-2 selama penelitian berlangsung. Kelompok K2 dan P diberi pakan standar BR-2 dan diet kuning telur 1,5 gram setiap hari selama dua minggu. Setelah itu kelompok K2 diberi pakan standar BR-2 selama tiga minggu. Pada Kelompok P diberi pakan standar BR-2 dan minyak atsiri bawang putih (*Allium sativum*) 1 tetes setiap hari selama 3 minggu. Data didapat dari hitung jenis monosit pada darah tepi dan diuji dengan uji *One Way Anova*.

**Hasil:** Rerata jumlah monosit pada darah tepi dari kelompok kontrol positif K2=2.0 (SE 0.8) dan kelompok perlakuan P=1.7 (SE 1.4) lebih rendah dari kelompok kontrol negatif K1=2.7 (SE 1.8). Uji *One Way Anova* tidak menunjukkan perbedaan bermakna dari jumlah monosit pada darah tepi antar kelompok  $p=0.402$  ( $p>0.05$ ).

**Kesimpulan:** Tidak terdapat perbedaan antara jumlah monosit pada darah tepi tikus wistar yang diberi minyak atsiri dengan tikus wistar yang tidak diberi minyak atsiri.

**Kata kunci:** minyak atsiri, *Allium sativum*, monosit

1)Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

2)Staf pengajar bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

## The Effects of Essential Oil from Garlic (*Allium sativum*) on Monocyte Cells Count in Peripheral Blood of Wistar Rats with Egg Yolk Supplement

Gestana Andru<sup>1</sup>, Innawati Jusup<sup>2</sup>

### **ABSTRACT**

**Background:** The essential oil from garlic contains diallyl polysulfide. Literatures mention that the compound is able to suppress the inflammation response from endothelial cells by inhibiting lipid radical generation. This study aimed to investigate the effects of garlic (*Allium sativum*) essential oil on monocyte cells count in peripheral blood of male wistar rats.

**Method:** This experimental study utilized post test only control group design. Twenty one male wistar rats were randomized into three treatment groups; negative control group K1, positive control group K2, and treatment group P. K1 group only fed with standard pellets BR-2 and water ad libitum throughout the experiment without any treatments. K2 group and P group were given standard pellets BR-2, water ad libitum and 1,5 gram egg yolk diet daily for two weeks. After two weeks the K2 group were given standard pellets BR-2 and water ad libitum without any treatments while the P group were given standard pellets BR-2, water ad libitum, and one drop garlic (*Allium sativum*) essential oil daily for three weeks. After three weeks of treatment, wistar rats were terminated. Monocyte cells count from peripheral blood was performed in private laboratory.

**Result:** Non significant differences among groups were found for monocyte cells count,  $p=0.402$  ( $p>0.05$ ). Mean for monocyte cells count in peripheral blood of wistar rats from K2 group=2.0 (SE 0.8) and P=group 1.7(SE 1.4) were lower than K1 group=2.7 (SE 1,8).

**Conclusion:** There were no differences between monocyte cells count in peripheral blood of wistar rats fed with garlic (*Allium sativum*) essential oil to wistar rats without garlic essential oil.

**Key words:** essential oil, *Allium sativum*, monocytes

<sup>1</sup> Student of Faculty of Medicine, Diponegoro University, Semarang

<sup>2</sup> Lecturer of Biochemistry Department, Diponegoro University, Semarang

# **BAB 1**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1.Latar belakang masalah**

Kemajuan zaman membawa banyak perubahan di dalam kehidupan sehari-hari. Seiring dengan peningkatan pendapatan penduduk terutama di perkotaan menyebabkan perubahan gaya hidup terutama dalam pola makan. Pola makan sebelumnya yakni tinggi karbohidrat, tinggi serat kasar dan rendah lemak berubah ke pola makan baru yakni rendah karbohidrat, rendah serat kasar dan tinggi lemak sehingga menggeser mutu makanan menjadi tidak seimbang.<sup>1</sup> Perubahan pola makan berakibat semakin banyaknya penduduk golongan tertentu mengalami peningkatan kadar lipid dalam darah atau hiperlipidemia.

Masalah gizi seperti ini memiliki dampak serius pada orang dewasa yakni dengan semakin meningkatnya kejadian penyakit degeneratif seperti penyakit jantung koroner,<sup>2</sup> diabetes mellitus, hipertensi dan penyakit hati.<sup>1</sup> Diet tinggi lemak merupakan faktor risiko penyakit jantung koroner yang dapat dimodifikasi sehingga dapat dicegah.<sup>3</sup> Diet tinggi lemak akan meningkatkan profil lipid seperti lipoprotein yang dapat menyebabkan cedera endotel karena peningkatan infiltrasi, retensi dan oksidasi dari lipoprotein tersebut.<sup>2</sup>

Akhir-akhir ini upaya pengobatan dan pencegahan penyakit diarahkan pada pemanfaatan tanaman herbal berkhasiat salah satunya adalah bawang putih.

Pemberian ekstrak bawang putih selama empat minggu dengan dosis sebesar 1-4% dari total diet sehari mampu menurunkan kolesterol, trigliserid, dan *low density lipoprotein* (LDL) pada serum tikus hiperlipidemia dengan diet tinggi kolesterol.<sup>4</sup> Penelitian lain membuktikan efek antioksidan pada ekstrak bawang putih untuk mencegah cedera endotel oleh LDL teroksidasi menggunakan parameter endotel dalam sirkulasi dimana terdapat penurunan yang signifikan.<sup>5</sup> Penelitian tersebut menunjukkan pengaruh bawang putih terhadap peningkatan profil lipid dan efek daripada peningkatan tersebut. Namun belum ada penelitian yang memberikan informasi tentang efek bawang putih dalam bentuk minyak atsiri terhadap jumlah monosit sebagai sel imun yang berperan pada peristiwa cedera endotel sebagai akibat dari oksidasi lipoprotein.

Berdasarkan uraian diatas peneliti ingin mengetahui efek minyak atsiri dari bawang putih terhadap jumlah monosit pada darah tepi tikus wistar yang diberi diet kuning telur.

## **1.2. Rumusan masalah**

Apakah terdapat perbedaan antara jumlah monosit pada darah tepi tikus wistar yang diberi minyak atsiri bawang putih (*Allium sativum*) dengan tikus wistar yang tidak diberi minyak atsiri ?

### **1.3. Tujuan penelitian**

#### **1.3.1. Tujuan penelitian umum**

Membuktikan ada perbedaan jumlah monosit pada darah tepi tikus wistar yang diberi minyak atsiri bawang putih (*Allium sativum*) dengan tikus wistar yang tidak diberi minyak atsiri.

#### **1.3.2. Tujuan penelitian khusus**

1. Membuktikan ada perbedaan jumlah monosit pada darah tepi tikus wistar yang diberi diet kuning telur dengan tikus wistar yang diberi diet standar
2. Membuktikan ada perbedaan jumlah monosit pada darah tepi tikus wistar yang diberi minyak atsiri bawang putih (*Allium sativum*) dengan tikus wistar yang tidak diberi minyak atsiri

### **1.4. Manfaat penelitian**

1. Memberikan informasi tentang minyak atsiri bawang putih (*Allium sativum*) terhadap jumlah monosit pada darah tepi tikus wistar
2. Memberikan landasan teori dalam pembuatan produk dari minyak atsiri bawang putih (*Allium sativum*) sebagai suplemen pencegah cedera endotel bagi pasien hiperlipidemia
3. Memberikan landasan teori bagi penelitian selanjutnya pada manusia.

## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

Penelitian ini akan memberikan uraian tentang pengaruh lipid terhadap metabolisme tubuh dan cedera endotel yang melibatkan sel imun yakni monosit serta peran antioksidan untuk mencegah cedera endotel.

#### **2.1. Lipid**

##### **2.1.1. Definisi dan fungsi**

Lipid merupakan konstituen diet yang penting karena nilai energinya yang tinggi, dan kaitannya dengan vitamin larut lemak dan asam lemak esensial.<sup>6</sup> Di dalam tubuh lemak memiliki kepentingan biomedis sebagai sumber ATP, komponen pembentuk membran sel, isolator panas di dalam jaringan subkutan serta organ tertentu, sintesis eikosanoid, hormon steroid, dan kofaktor untuk reaksi enzim.<sup>7</sup>

Lipid tersusun dari empat kelompok utama yaitu Triasilgliserol (45%), Total Fosfolipid (35%), Kolesterol ester (15%), dan asam lemak bebas (5%).<sup>6</sup>

##### **2.1.2. Harga normal lipid**

Kadar lipid serum normal menurut National Cholesterol Education Program (NCEP)- Adult Panel Treatment III (ATP III) dapat dilihat dalam lampiran 1.<sup>8</sup>

### **2.1.3. Hiperlipidemia**

Lipid memiliki banyak peran yang berguna bagi tubuh, namun bila kadar lipid tersebut berlebihan, akan menimbulkan kerusakan membran sel endotel pembuluh darah. Infiltrasi dan retensi dari lipoprotein yang bersifat atherogenik terutama LDL di celah ekstrasel dari intima akan menjadi rentan dari pengaruh oksidasi. LDL teroksidasi tersebut akan dilahap oleh makrofag dan merangsang pembentukan dari lipid peroksid dan mengakibatkan penumpukan kolesterol ester menjadi sel busa.<sup>9</sup>

Kadar total kolesterol yang diharapkan adalah 140-200 mg/dL. Peningkatan kadar kolesterol total melewati 300 mg/dL akan meningkatkan risiko serangan jantung sebanyak dua kali lipat. Profil lipid yang diharapkan yakni kadar LDL kolesterol kurang dari 130 mg/dL, dan kadar HDL kolesterol diatas 40 mg/dL. Pada kelompok dengan penyulit diabetes atau aterosklerosis, kadar LDL kolesterol sebaiknya kurang dari 70 mg/dL.<sup>10</sup>

### **2.1.4. Diet kuning telur**

Kuning telur merupakan bagian dari telur dengan komposisi kimia lengkap dengan kandungan tinggi lemak (11,5%) dan kolesterol. WHO menganjurkan konsumsi lemak sebanyak 15-30% kebutuhan energi total dan konsumsi kolesterol dianjurkan kurang dari 300 mg sehari.<sup>1</sup>

Lemak dari kuning telur dapat menaikkan profil lipid, terutama kolesterol total dan trigliserid. Kolesterol dan trigliserid akan diemulsikan



dalam garam empedu kemudian akan diuraikan oleh enzim lipase lambung menghasilkan asam lemak bebas dan dua monogliserid . Asam lemak bebas dan monogliserid akan disintesis kembali menjadi trigliserid dan fosfolipid, kemudian bergabung bersama kilomikron yang akan mengangkutnya menuju hati selanjutnya dari hati akan dibawa ke jaringan ekstrahepatik.<sup>11</sup>

## **2.2. Kolesterol**

### **2.2.1. Definisi dan fungsi**

Kolesterol terdapat pada banyak jaringan tubuh dan plasma darah baik dalam bentuk bebas atau ester. Didalam plasma, kedua bentuk tersebut diangkut dengan lipoprotein.<sup>12</sup> Kolesterol digunakan oleh tubuh untuk biosintesis hormon steroid, asam empedu, dan vitamin D.<sup>13</sup>

### **2.2.2. Biosintesis dan transpor**

Tubuh manusia sanggup memenuhi kebutuhan tubuh akan kolesterol dengan biosintesis endogen di hepar, usus dan hati.<sup>7</sup> Proses sintesis kolesterol secara keseluruhan dibagi menjadi lima tahap.

Tahap pertama dimulai dengan kondensasi dua asetil KoA membentuk HMG KoA kemudian direduksi menjadi mevalonat.<sup>6</sup> Tahap kedua adalah fosforilasi mevalonat secara berurutan oleh ATP sebanyak tiga kali, kemudian didekarboksilasi membentuk isopentenyl difosfat. Tahap ketiga adalah isomerisasi isopentenyl difosfat membentuk dimetilallyl difosfat,

kemudian terkondensasi dengan molekul isopentenil difosfat lainnya sebanyak dua kali membentuk farnesyl difosfat. Kemudian dua molekul farnesyl difosfat terkondensasi membentuk skualen.

Tahap keempat, pembentukan lanosterol, skualen dikonversi menjadi skualen 2,3-epoksid didalam retikulum endoplasma, kemudian diubah menjadi lanosterol. Terakhir adalah pembentukan kolesterol, dengan memutuskan dua gugus metal pada atom C<sub>14</sub> dan atom C<sub>4</sub> membentuk zimosterol, kemudian ikatan rangkap pada atom C<sub>8</sub>-C<sub>9</sub> dipindahkan ke atom C<sub>5</sub>-C<sub>6</sub> membentuk desmosterol, terakhir ikatan rangkap pada kedua sisi direduksi membentuk kolesterol.<sup>12</sup>

Kolesterol diangkut di dalam lipoprotein didalam plasma, dan proporsi terbesar terdapat pada LDL. Dari kolesterol yang diserap, 80-90% akan mengalami esterifikasi dengan asam lemak rantai panjang di dalam mukosa usus. senyawa ini bercampur dengan kolesterol yang disintesis di usus dan kemudian disatukan membentuk kilomikron.

### **2.3. Lipoprotein**

Lipid memiliki sifat umum tidak larut dalam air, maka sulit untuk melarutkannya kedalam plasma darah, oleh karena itu lipid membutuhkan zat pelarut yang dinamakan apoprotein. Senyawa lipid yang bergabung dengan apoprotein disebut lipoprotein.<sup>14</sup>

Terdapat empat kelompok lipoprotein yang mempunyai makna penting secara fisiologis dan diagnosis. Keempat kelompok ini adalah (1) Kilomikron; (2) *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL), berasal dari hati untuk mengeluarkan triasilgliserol; (3) *Low Density Lipoprotein* (LDL) yang memperlihatkan tahap akhir di dalam katabolisme VLDL; (4) *High Density Lipoprotein* (HDL) yang terlibat di dalam metabolisme VLDL dan kilomikron serta pengangkutan kolesterol.<sup>6</sup>

### **2.3.1. *Low density lipoprotein* (LDL)**

LDL mengandung kolesterol dalam proporsi terbesar di dalam lipoprotein plasma. LDL akan membawa kolesterol ke dalam hati dan jaringan ekstrahepatik melalui reseptor LDL yang dimiliki oleh hati dan jaringan ekstrahepatik. LDL memiliki diameter 20-25 nm, densitas 1,019-1,063 , kandungan protein sebanyak 21% dan lipid 79% dengan kolesterol ester sebagai fraksi lipid terbanyak.<sup>6</sup>

Peningkatan jumlah LDL akibat diet tinggi lemak berkaitan dengan cedera endotel. LDL yang jumlahnya meningkat akan terikat oleh proteoglikan dan tertahan pada tunika intima kemudian mengalami modifikasi dalam bentuk oksidasi. LDL teroksidasi menyebabkan cedera endotel, akumulasi dan retensi dari makrofag pada endotel.<sup>15</sup> LDL teroksidasi juga menginduksi endotel membentuk molekul adhesi, kemokin, sitokin proinflamasi, dan mediator inflamasi lain.<sup>16</sup>

## 2.4. Cedera endotel

Beberapa kepustakaan menyebutkan bahwa tahap awal dari penyakit jantung adalah cedera endotel karena infiltrasi dan retensi dari lipoprotein (terutama yang mengandung apo-B) didalam celah subendotel dari dinding pembuluh darah.<sup>17-19</sup> Cedera endotel akan meningkatkan perlekatan leukosit dan platelet pada endotel, permeabilitas endotel, produksi sitokin, perubahan antikoagulan menjadi prokoagulan dan vasodilator menjadi vasokonstriktor.<sup>17</sup>

Faktor yang memiliki kontribusi besar terhadap cedera endotel adalah LDL. Retensi LDL di subendotel akan menghasilkan proses oksidasi dan selanjutnya internalisasi oleh makrofag melalui reseptor *scavenger*.<sup>18</sup> Internalisasi LDL oleh makrofag akan merangsang pembentukan lipid peroksid dan akumulasi kolesterol ester didalam makrofag. LDL termodifikasi juga merupakan kemotaktik bagi monosit lain dan dapat meningkatkan ekspresi gen dari *macrophage colony-stimulating factor* (MCSF) dan *monocyte chemotactic protein* (MCP) pada sel endotel. Kedua mediator, baik MCSF maupun MCP akan meningkatkan replikasi monosit menjadi makrofag dan menarik monosit baru ke dalam lesi.<sup>19</sup>

## 2.5. Monosit

### 2.5.1. Definisi dan fungsi

Monosit merupakan bentuk leukosit yang berbeda dari granulosit karena susunan morfologi intinya dan sifat sitoplasmanya yang relatif

agranular.<sup>20</sup> Monosit memiliki bentuk bermacam-macam, berukuran lebih besar dari jenis leukosit lainnya (berdiameter 16-20 $\mu$ m) dan memiliki inti besar di tengah berbentuk oval atau berlekuk dengan kromatin bergerombol, memiliki sitoplasma yang berlimpah berwarna biru pucat dan mengandung banyak vakuola halus.<sup>21</sup>

Sel yang sama, bila di dalam aliran darah disebut monosit, kalau terdapat didalam eksudat disebut makrofag. Makrofag adalah sel yang bergerak aktif yang memberi respon terhadap rangsangan kemotaktik, fagosit aktif, dan mampu mematikan serta mencernakan berbagai agen asing.<sup>20</sup> Harga normal hitung leukosit jenis monosit pada manusia adalah 0,20-0,8 x10<sup>9</sup> /L, sedangkan pada *differential count* preparat darah tepi berkisar antara 1-6 sel per 100 sel leukosit.<sup>21</sup>

Fungsi normal monosit dibagi dalam tiga fase:<sup>21</sup>

1. Kemotaksis (mobilisasi dan migrasi sel) dimana fagosit ditarik ke bakteri atau tempat peradangan oleh zat kemotaktik yang dilepaskan dari jaringan rusak atau oleh komponen komplemen.
2. Fagositosis zat asing (bakteri, jamur dll) atau sel tubuh hospes yang mati atau rusak. Pengenalan partikel asing dibantu oleh opsonisasi dengan imunoglobulin atau komplemen melalui reseptor pada monosit.
3. Membunuh dan mencerna. Fungsi ini terjadi dengan jalan yang tergantung oksigen dan tak tergantung oksigen. Pada reaksi yang tergantung oksigen,

menggunakan superoksida dan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), sedangkan non-oksidatif menggunakan enzim lisosomal.

Peningkatan dari monosit didalam darah tepi disebut monositosis ditemukan pada keadaan infeksi kronis, penyakit protozoa, neutropenia kronis, penyakit hodgkin, leukemia mielomonositik dan monositik.<sup>21</sup>

## **2.6. Minyak atsiri**

### **2.6.1. Definisi dan sifat**

Minyak yang terdapat di alam dapat dibagi menjadi tiga, yakni minyak mineral (*mineral oil*), minyak nabati dan hewani, serta minyak atsiri (*essential oil*) atau minyak eteris yang dihasilkan oleh tanaman.<sup>22</sup>

Minyak atsiri memiliki beberapa sifat umum diantaranya mudah menguap pada suhu kamar tanpa mengalami dekomposisi, mempunyai rasa getir dan bau wangi sesuai bau tanaman penghasilnya, larut dalam pelarut organik, dan tidak larut dalam air. Sifat minyak atsiri ditentukan oleh persenyawaan kimia didalamnya terutama persenyawaan tak jenuh (terpene), ester, asam dan aldehida serta beberapa persenyawaan lainnya.<sup>23</sup>

### **2.6.2. Komposisi kimia**

Minyak atsiri secara umum terdiri dari unsur karbon (C), hidrogen (H), dan oksigen (O), kadang-kadang belerang (S), dan nitrogen (N) juga komponen yang tidak menguap seperti lilin dan resin. Komponen minyak

atsiri dibagi menjadi dua, yakni *hydrocarbon* dan *oxygenated hydrocarbon*.<sup>22,23</sup>

Komponen *hydrocarbon* terdiri atas senyawa terpena dan sebagian besar terdiri dari monoterpena, sesquiterpena, diterpena, politerpena, parafin, olefin, dan hidrokarbon aromatik. Komponen *oxygenated hydrocarbon* mencakup persenyawaan alkohol, aldehida, keton, oksida, ester dan eter dengan ikatan karbon jenuh maupun tak jenuh.

### **2.6.3. Ekstraksi**

Minyak atsiri adalah zat cair yang mudah menguap bercampur dengan persenyawaan padat yang berbeda komposisi dan titik cairnya serta dalam sifat kelarutannya. Berdasarkan hal tersebut, maka cara minyak atsiri dapat diekstrak melalui empat macam cara: penyulingan, *pressing*, ekstraksi dengan pelarut yang menguap, dan ekstraksi dengan lemak padat.<sup>23</sup>

Dari keempat cara tersebut, proses penyulingan lebih sering dipakai untuk mendapatkan minyak atsiri. Penyulingan adalah proses pemisahan komponen yang berupa cairan atau padatan dari dua macam campuran atau lebih berdasarkan perbedaan titik uapnya. Jumlah minyak yang menguap bersama uap air ditentukan oleh tiga faktor, yaitu: besarnya tekanan uap, berat molekul dari komponen dalam minyak, dan kecepatan minyak yang keluar dari bahan. Terdapat tiga metode penyulingan: penyulingan dengan

air; penyulingan dengan air dan uap; penyulingan dengan uap. Berikut akan dijelaskan mengenai ketiga metode tersebut:

1. Penyulingan dengan air: bahan yang akan disuling akan bersinggungan langsung dengan air mendidih, kemudian menguap bersama uap air melewati kondensor untuk kondensasi.
2. Penyulingan dengan air dan uap: bahan diletakkan diatas alas yang berupa ayakan yang terletak di atas permukaan air dalam ketel penyuling. Kemudian minyak atsiri akan menguap dan dialirkan ke dalam kondensor untuk kondensasi.
3. Penyulingan dengan uap : sistem ini menggunakan sumber uap panas yang letaknya terpisah dari ketel penyulingan. Sumber uap akan mengalirkan uap dengan tekanan lebih tinggi dari tekanan udara luar dengan tujuan untuk menyuling komponen kimia yang bertitik didih tinggi, kemudian minyak atsiri akan menguap dan terbawa oleh aliran uap air yang akan dialirkan ke dalam kondensor untuk kondensasi.

#### **2.6.4. Minyak atsiri bawang putih (*Allium sativum*)**

Bawang putih (*Allium sativum*) mengandung beberapa komponen aktif seperti asam amino, mineral, vitamin, minyak atsiri dengan zat mengandung sulfur (allyl disulfide, allyl trisulfide, dll), alliin, ajoene, fruktosa dan glukosa.<sup>24</sup> Bawang putih (*Allium sativum*) memiliki berbagai khasiat seperti



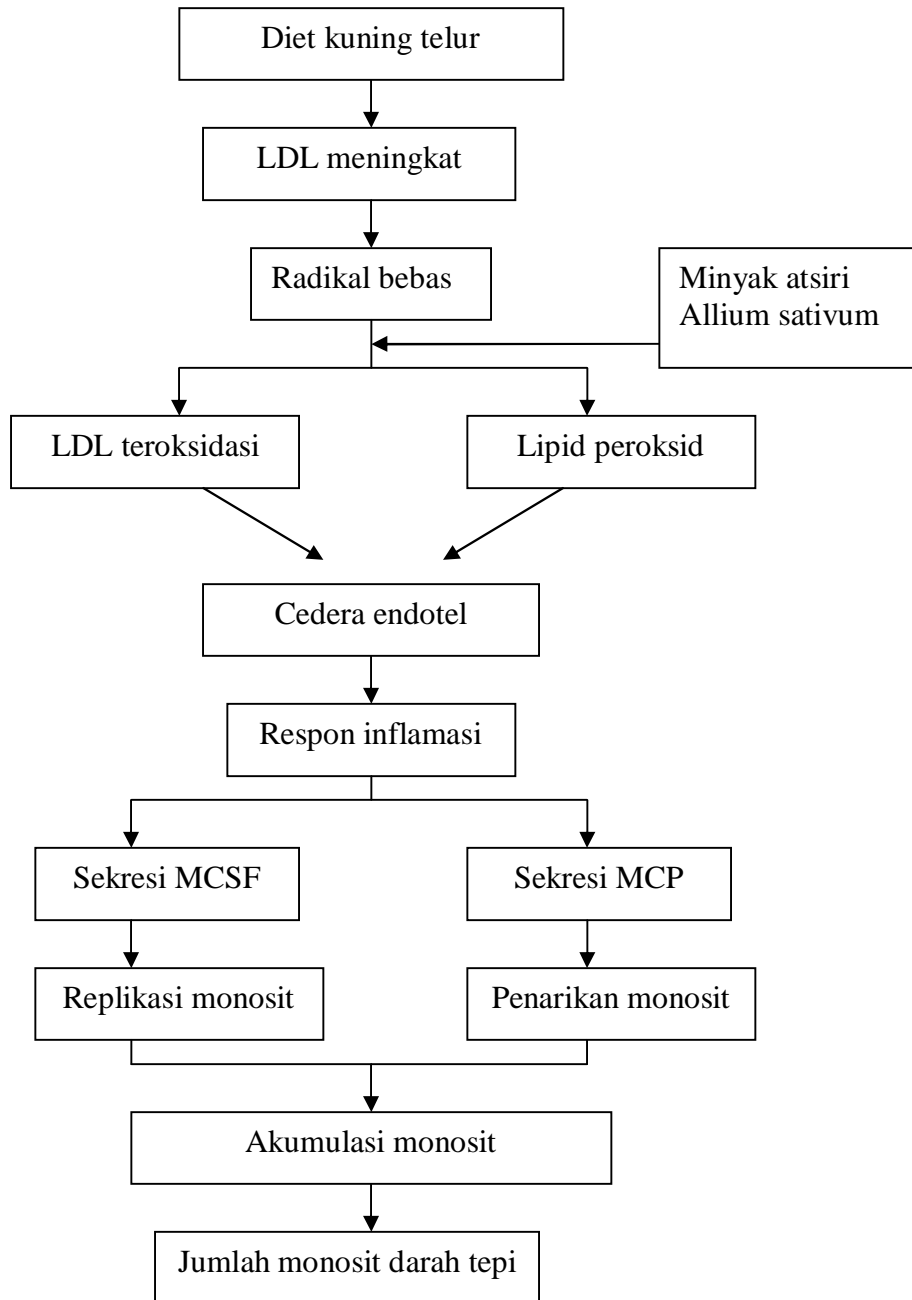
menurunkan kadar kolesterol plasma, menghambat agregasi trombosit, meningkatkan aktivitas fibrinolitik, menghambat atherogenesis dan menurunkan tekanan darah.<sup>25</sup>

Minyak atsiri bawang putih mengandung antioksidan yang berperan dalam menghambat atherogenesis. Menurut penelitian terdahulu antioksidan yang terkandung dalam minyak atsiri dan peranannya dalam menghambat cedera endotel adalah diallyl polysulfide untuk melindungi kerusakan sel membran dari lipid peroksid.<sup>5</sup>

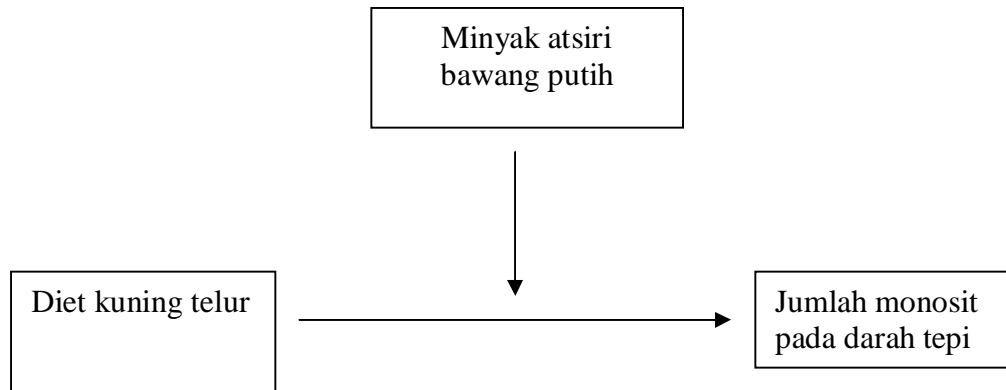
Pemberian minyak atsiri yang setara dengan 1 gram bawang putih segar/kg berat badan/hari diperkirakan menjadi dosis terapi untuk penyakit jantung.<sup>24</sup> Dosis toksik dari bawang putih segar menurut kepustakaan 500 mg/100 g berat badan sehari.<sup>25</sup>

Senyawa diallyl polysulfide merupakan komponen organosulfur yang terdapat dalam minyak atsiri bawang putih, senyawa ini terdiri dari beberapa senyawa allyl seperti diallyl disulfide (DADS), diallyl trisulfide, metilallyl disulfide, metilallyl trisulfide dengan presentase terbanyak adalah DADS.<sup>26</sup> DADS bekerja sebagai antioksidan dengan cara mengurangi jumlah radikal bebas dalam sirkulasi sehingga pembentukan lipid peroksid dan LDL teroksidasi berkurang.<sup>26</sup>

## 2.7 Kerangka teori



## 2.8. Kerangka konsep



## 2.9. Variabel penelitian

### 2.9.1. Variabel bebas

Sebagai variabel bebas adalah pemberian minyak atsiri dari *Allium sativum*.

### 2.9.2. Variabel tergantung

Sebagai variabel tergantung adalah jumlah monosit pada preparat darah tepi tikus wistar jantan.

Skala kedua variabel tersebut adalah rasio.

## 2.10. Definisi operasional variabel

### 2.10.1. Minyak atsiri bawang putih (*Allium sativum*)

Minyak atsiri bawang putih (*Allium sativum*) berupa larutan minyak yang diperoleh melalui penyulingan uap kemudian diberikan melalui pipet dengan dosis 0,05 ml (satu tetes) setiap hari selama tiga minggu.

### **2.10.2. Diet kuning telur**

Diet kuning telur ditentukan sebesar 0,5-1% BB tikus atau sekitar 1,5 gram, diberikan lewat sonde lambung setiap hari.

### **2.10.3. Jumlah monosit**

Monosit pada sampel darah yang diperoleh dari aorta abdominalis tikus wistar jantan yang dihitung menggunakan metode *differential counting* menggunakan satuan persen.

### **2.11. Hipotesis penelitian**

Terdapat perbedaan antara jumlah monosit pada darah tepi tikus wistar yang diberi minyak atsiri bawang putih (*Allium sativum*) dengan tikus wistar yang tidak minyak atsiri.

## **BAB 3**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1. Ruang lingkup penelitian**

##### **3.1.1. Ruang lingkup keilmuan**

Penelitian ini meliputi bidang ilmu biokimia, kimia.

##### **3.1.2. Ruang lingkup waktu**

Penelitian berlangsung 12 minggu, enam minggu pertama pada Maret-April 2008 untuk kelompok kontrol positif dan perlakuan kemudian dilanjutkan enam minggu pada April-Juni 2009 untuk kelompok kontrol negatif

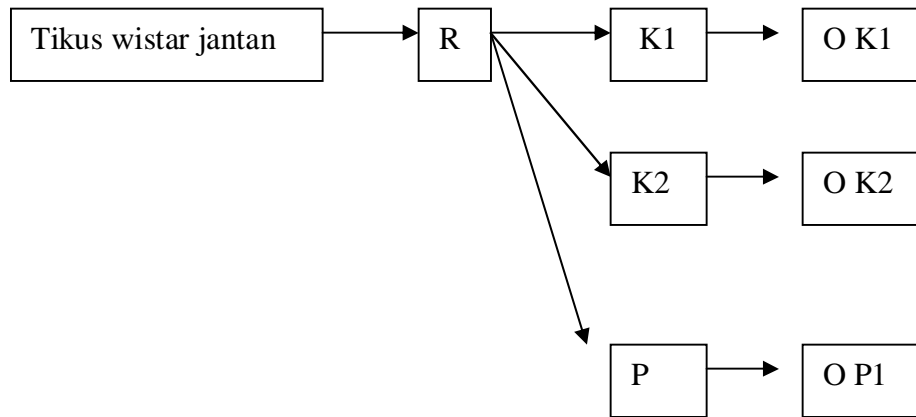
##### **3.1.3. Ruang lingkup tempat**

Pemeliharaan hewan coba dan pembuatan diet kuning telur dilakukan di laboratorium Biokimia Universitas Diponegoro Semarang. Pembuatan minyak atsiri bawang putih dilakukan di Badan Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik (BALITRO) Bogor. Penghitungan jumlah monosit dilakukan di laboratorium swasta berizin di Semarang.

#### **3.2. Jenis penelitian**

Penelitian ini menggunakan *Post Test Only Control Group Design* sebagai rancangan penelitian. Sampel dibagi menjadi tiga kelompok melalui randomisasi sederhana, yaitu kelompok kontrol negatif (K1), kontrol positif (K2) dan perlakuan (P). Pengukuran dilakukan hanya pada *post test*, dengan membandingkan hasil penghitungan jumlah monosit antar kelompok.

Rancangan Percobaan:



Keterangan: R = Randomisasi, K1 = Kontrol 1 (diet standar), K2= Kontrol 2 (diet kuning telur), P= Perlakuan (diet standar + minyak atsiri bawang putih), O K = Jumlah monosit pada K1, O K2 = Jumlah monosit pada K2, O P = Jumlah monosit pada P

### **3.3. Populasi dan sampel penelitian**

#### **3.3.1. Populasi penelitian**

Populasi penelitian ini adalah semua tikus wistar jantan di Unit Pengembangan Hewan Penelitian (UPHP) Yogyakarta.

#### **3.3.2. Sampel penelitian**

Sampel penelitian ini adalah 21 ekor tikus wistar jantan yang diperoleh dari UPHP Yogyakarta yang dibagi menjadi tiga kelompok yakni kelompok kontrol negatif, kontrol positif dan perlakuan. Masing-masing kelompok terdiri dari tujuh ekor tikus wistar jantan yang semuanya dikandangkan

secara terpisah di Laboratorium Biokima Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

#### **3.3.2.1 Kriteria inklusi**

1. Tikus wistar jantan usia 8 minggu
2. Berat badan tikus 150-200 gram
3. Kondisi sehat (aktif, tidak cacat)

#### **3.3.2.2. Kriteria eksklusi**

1. Bobot tikus menurun hingga berat badannya kurang dari 150 gram
2. Tikus mati dalam masa penelitian
3. Tikus mengalami diare selama penelitian berlangsung

#### **3.3.2.3. Besar sampel**

Besarnya sampel ditentukan berdasarkan kriteria yang dikemukakan WHO, yaitu minimal lima ekor tikus tiap satu kelompok.<sup>27</sup> Besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tujuh ekor tikus tiap kelompok. Terdapat tiga kelompok yakni dua kelompok kontrol dan satu kelompok perlakuan. Jumlah sampel seluruhnya adalah 21 ekor tikus wistar jantan.

#### **3.3.2.4. Cara pengambilan sampel**

Pengambilan sampel dilakukan secara randomisasi sederhana untuk menghindari bias karena variasi umur dan berat badan. Randomisasi dapat

langsung diaplikasikan karena sampel diambil dari tikus wistar yang telah memenuhi kriteria inklusi sehingga dianggap cukup homogen. Dua puluh satu ekor tikus wistar dibagi menjadi tiga kelompok yaitu satu kelompok perlakuan dan dua kelompok kontrol. Masing-masing kelompok terdiri dari tujuh ekor tikus wistar jantan yang dikandangkan secara terpisah di Laboratorium Biokimia Fakultas kedokteran Universitas Diponegoro.

### **3.4. Alat dan bahan**

#### **3.4.1. Alat**

1. Kandang tikus
2. Tempat pakan dan tempat minum tikus untuk tiap kandang
3. Sonde lambung
4. Timbangan elektronik AND
5. Alat-alat untuk membuat minyak atsiri *Allium sativum*
6. Alat-alat untuk membuat preparat darah tepi dari sampel darah tikus

#### **3.4.2. Bahan**

1. Makanan tikus wistar yaitu pakan standar BR-2 dan minuman untuk tikus
2. Kuning telur yang telah dipisahkan dari putih telur
3. Minyak atsiri *Allium sativum* yang didapat dengan teknik penyulingan uap
4. Bahan-bahan yang digunakan untuk membuat preparat darah hapus dari sampel darah tikus

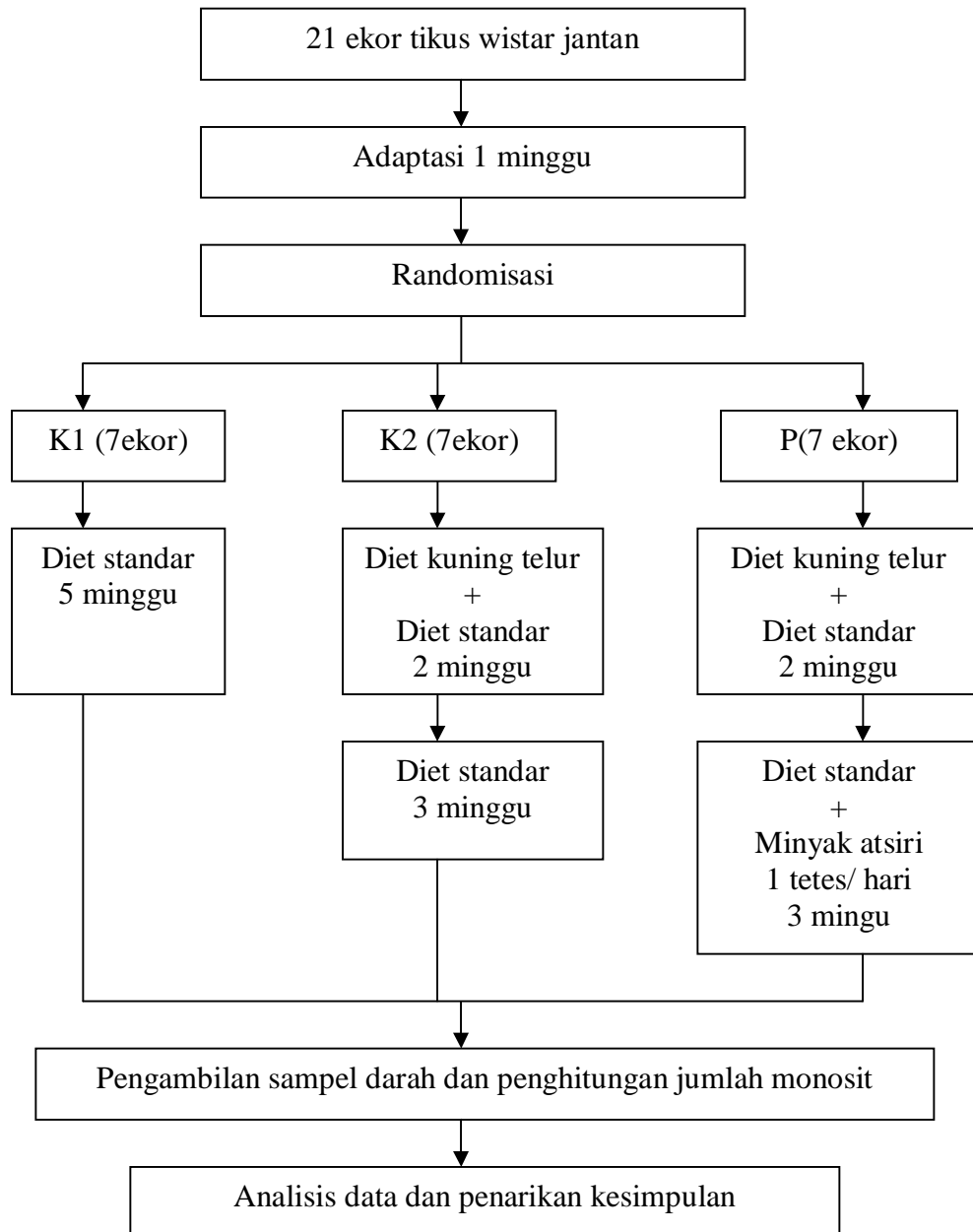


### 3.5. Cara kerja

Proses adaptasi dilakukan pada tikus wistar selama 1 minggu sebelum mendapat perlakuan. Selama proses adaptasi, dua puluh satu tikus wistar hanya diberi pakan standar dan minum secara *ad libitum*. Setelah satu minggu adaptasi, 21 ekor tikus tersebut akan dibagi menjadi tiga kelompok yakni kontrol negatif (K1), kontrol positif (K2), dan perlakuan (P). Kelompok K1 hanya mendapatkan diet standar BR-2 saja sampai akhir penelitian. Kelompok K2 dan P mendapatkan diet kuning telur dan diet standar selama dua minggu. Selanjutnya kelompok K2 akan mendapat diet standar saja tanpa perlakuan minyak atsiri bawang putih (*Allium sativum*) selama tiga minggu. Kelompok P mendapatkan diet standar dan minyak atsiri bawang putih (*Allium sativum*) dengan dosis 0,05 ml (satu pipet) selama tiga minggu.

Pada akhir penelitian tikus pada ketiga kelompok akan diterminasi untuk mengambil sampel darah tepi melalui aorta abdominalis. Sampel darah tersebut akan dibawa ke laboratorium swasta berizin untuk diperiksa jumlah monositnya.

### 3.6. Alur penelitian



### 3.9. Analisis data

Data yang diperoleh dari ketiga kelompok merupakan data primer yang akan diproses menggunakan SPSS 15.0 for Windows. Sebelum uji hipotesis, dilakukan analisis statistik deskriptif terhadap data yang didapatkan untuk mengetahui karakteristik data. Karena variabel tergantung pada penelitian ini merupakan variabel numerik, parameter karakteristik data yang lazim digunakan berupa ukuran penyebaran data dan ukuran pemusatan data. Pemilihan parameter tersebut berdasarkan normalitas sebaran data. Sebaran data dinilai secara statistik dengan uji *Saphiro-Wilk* dan gambaran deskriptif box plot. Uji statistik menunjukkan sebaran data normal, namun gambaran box plot mengesankan sebaran data tidak normal, peneliti memutuskan untuk menggunakan uji statistik untuk menentukan normalitas sebaran data. Sebaran data dari ketiga kelompok adalah normal, maka digunakan mean sebagai ukuran pemusatan dan standar deviasi sebagai ukuran penyebaran. Uji hipotesis yang digunakan dalam analisis data penelitian adalah uji hipotesis komparatif variabel numerik terhadap tiga kelompok tidak berpasangan. Sebelum dilakukan uji hipotesis harus diperiksa kesamaan dari variasi data menggunakan uji *Levene's*. Hasil uji *Levene's* menunjukkan variasi data homogen maka memenuhi syarat untuk uji hipotesis parametrik *One Way Anova*.<sup>28</sup> Hasil uji hipotesis tersebut menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna ( $p > 0.05$ ).

## BAB 4

### HASIL PENELITIAN

Data jumlah monosit dari ketiga kelompok terdistribusi secara normal berdasarkan tes *Saphiro-Wilk* dengan nilai  $p > 0.05$  sehingga digunakan rerata sebagai ukuran pemusatan dan standar deviasi untuk ukuran penyebaran. Deskripsi untuk data jumlah monosit tercantum pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil hitung jenis monosit pada tiap kelompok

Kelompok	N	Jumlah monosit	
		Rerata	Standar deviasi
Diet standar (K1)	7	2.7	1.8
Diet kuning telur (K2)	7	2.0	0.8
Minyak atsiri bawang putih (P)	7	1.7	1.4

Kesamaan dari varians data adalah homogen untuk jumlah monosit berdasarkan uji Levene's dan box plot. Uji Levene's menunjukkan nilai  $p = 0.16$  ( $p > 0.05$ ) maka disimpulkan varians data homogen.

Uji *One Way Anova* dipilih untuk uji hipotesis karena syarat sebaran data normal dan varians data homogen terpenuhi. Uji tersebut menghasilkan nilai  $p = 0.40$  ( $p > 0.05$ ) dan disimpulkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan dari jumlah monosit antar kelompok.

## BAB 5

### PEMBAHASAN

Makrofag merupakan pusat dari inisiasi dan progresi dari atherosklerosis dan dapat dijadikan sasaran terapi. Reseptor *scavenger* makrofag seperti SR-A dan CD-36 memfasilitasi influx dari lipid yang teroksidasi untuk membentuk sel busa.<sup>29</sup> Proliferasi dan apoptosis dari makrofag merupakan hal penting untuk mengendalikan respon inflamasi, vulnerabilitas dan stabilitas dari plak. Kolesterol bebas mengaktifkan jalur stress via retikulum endoplasma dari makrofag dan mencetuskan apoptosis sedangkan radikal bebas dan nitrit oksida memodulasi pembentukan sel busa dan apoptosis.<sup>29,30</sup> Antioksidan digunakan sebagai terapi dan hitung jenis monosit parameter progresivitas dari atherosklerosis.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah monosit kelompok K1 tidak berbeda bermakna ( $p > 0.05$ ) dibandingkan kelompok K2. Hal ini mengindikasikan pemberian kuning telur tidak memberikan hasil penurunan jumlah monosit secara bermakna seperti yang diharapkan. Pemberian diet kolesterol kepada hewan coba ditujukan agar terjadi peningkatan LDL yang memicu peningkatan radikal bebas anion superoksida oleh endotel.<sup>31</sup> Dampak negatif radikal bebas terhadap membran sel terutama endotel pembuluh darah akan meningkatkan ekspresi *Intercellular Adhesion Molecule-1* (ICAM-1) dan molekul adhesi lainnya yang akan menarik monosit dari sirkulasi.<sup>32</sup> Namun terdapat sistem antioksidan endogen yakni enzim

superoksida dismutase (SOD) sehingga dampak negatif radikal bebas dapat dikurangi.

Kuning telur mentah yang dijadikan bahan percobaanpun ternyata memiliki kandungan selain kolesterol dan lemak yakni protein, karbohidrat juga antioksidan seperti vitamin E dan selenium,<sup>33</sup> namun belum didapatkan kepustakaan yang menyebutkan antioksidan dalam kuning telur memiliki pengaruh terhadap kadar antioksidan dalam darah. Diduga vitamin E dan selenium berperan dalam memerangi dampak radikal bebas.

Peningkatan asupan kolesterol juga akan meningkatkan produksi HDL. HDL bertanggung jawab atas transpor balik kolesterol dari dinding arteri ke organ hepar.<sup>34</sup> Pada penelitian kali ini tidak dilakukan pemeriksaan kadar HDL untuk membuktikan apakah kuning telur yang diberikan dapat meningkatkan HDL secara signifikan, namun HDL endogen tikus dapat berpotensi anti hiperkolesterolemik. Diduga pada penelitian ini, HDL tikus mengalami peningkatan dan berpotensi menurunkan sebagian kolesterol sehingga proses pembentukan radikal bebas terhambat.

Jumlah monosit kelompok P tidak berbeda bermakna ( $p > 0,05$ ) dari kelompok K2. Hasil tersebut menunjukkan pemberian minyak atsiri bawang putih tidak berpengaruh untuk meningkatkan jumlah monosit secara bermakna.

Minyak atsiri *Allium sativum* mengandung DADS yang dapat membantu kerja dari antioksidan endogen seperti SOD, glutathione peroksidase (GPx) glutathione reduktase (GSH) dan katalase.<sup>35</sup> Dengan adanya penambahan antioksidan eksogen

diharapkan jumlah radikal bebas dapat dikurangi sehingga stress oksidatif teratasi dan peradangan dihentikan. Diperkirakan ada mekanisme lain yang mempengaruhi proses penambahan antioksidan luar ke dalam tubuh.

Respon inflamasi dari endotel pembuluh darah membuat endotel mengekspresikan mediator inflamasi seperti *Intercellular Adhesion Molecule* (ICAM).<sup>9</sup> Ekspresi ICAM banyak terjadi pada endotel dan makrofag pada proses pembentukan atherosklerosis.<sup>32</sup> Peningkatan ICAM-1 akan mengundang monosit, leukosit dan bioaktif darah lainnya menuju tempat lesi. Faktor kemoatraktan maupun molekul adhesi seperti ICAM-1, dan MCP-1 dapat dijadikan target terapi dari pencegahan akumulasi monosit dan atherogenesis menggunakan antibodi untuk mediator tersebut.<sup>36</sup> Namun belum ditemukan kepustakaan yang menyebutkan bahwa pemberian minyak atsiri bawang putih (*Allium sativum*) mempengaruhi kadar antibodi tersebut. Penelitian tersebut juga menyebutkan bahwa peningkatan kolesterol dalam serum berkorelasi positif terhadap akumulasi monosit.

Terdapat mediator selain MCP-1 dan ICAM-1 yakni MCSF yang menginduksi replikasi monosit, walaupun proses inflamasi sudah ditekan oleh antioksidan dalam minyak atsiri, namun pada tempat lesi dimana monosit telah tertarik tetap akan bereplikasi dan mengeluarkan sinyal-sinyal kemoatraktan yang lain untuk menarik monosit dari sirkulasi darah ke tempat lesi.<sup>19</sup>

Minyak atsiri bawang putih (*Allium sativum*) mengandung antioksidan DADS, yang ternyata juga memiliki efek hipolipidemik dengan menghambat kerja

enzim sterol 4 $\alpha$ -methyl oksidase.<sup>24</sup> Diperkirakan efek hipolipidemik tersebut tidak berpengaruh banyak terhadap penurunan jumlah LDL sehingga LDL yang teroksidasi tetap ada dan proses inflamasi berlanjut sehingga akumulasi monosit terus berlangsung.

Faktor lain yang mempengaruhi hasil diatas adalah bahwa antioksidan dalam minyak atsiri hanya mengurangi dampak negatif radikal bebas, dan menurunkan kemungkinan sel untuk teroksidasi. Namun antioksidan tersebut tidak mampu menahan LDL yang terlanjur teroksidasi. LDL teroksidasi akan terus mencederai endotel yang memicu ekspresi MCP-1 sehingga proses akumulasi akan terus berlanjut.

Faktor HDL yang dapat berlaku sebagai antioksidan untuk memberihkan LDL dari sirkulasi darah juga tak luput dari pengaruh inflamasi fase akut. Pada masa akut tersebut, terjadi peningkatan protein fase akut yakni seruloplasmin yang menghambat kemampuan HDL untuk mencegah proses modifikasi LDL dengan menurunkan enzim Apo A dari HDL. Pemisahan sistem enzim platelet activating factor acetyl hydrolase dan paraoxonase dari HDL pada masa akut juga ikut ambil bagian dalam sifat HDL yang pro inflamasi.<sup>37</sup>

Monosit berpartisipasi dalam membentuk plak ateroma melalui sel busa (foam cell) yang dimulai dengan influks lipid ke dalam makrofag lewat reseptor *scavenger* SR-A dan CD-36. Ternyata proses influks lipid tersebut akan mengaktivasi protein kinase A dengan 8-bromo-cAMP yang kemudian akan menstimulasi sekresi Apo E.



Apo E merupakan sistem enzim yang bersifat antiaterogenik dengan mengeluarkan kolesterol dari makrofag melalui transpor intrasel. Jadi sebenarnya terdapat semacam mekanisme pertahanan dari monosit untuk mencegah progresivitas dari pembentukan plak melalui akumulasi monosit, namun dalam penelitian ini mekanisme tersebut tidak terlalu berpengaruh karena ternyata kemampuan monosit tersebut dipengaruhi oleh genotip dari hewan coba.<sup>34</sup> Diperkirakan genotip hewan coba yang digunakan termasuk kedalam kelompok genotip yang defisiensi Apo E dimana kemampuan monosit untuk mencegah akumulasi monosit selanjutnya tidak dimiliki.

Keterbatasan dari penelitian ini adalah tidak diperiksanya kadar lipid darah tikus seperti LDL, HDL, dan kolesterol. Hal tersebut tidak dilakukan karena peneliti merujuk dari penelitian yang dilakukan oleh Christina D (2009) yang menunjukkan bahwa pemberian kuning telur sebanyak 6,25 gram/kgBB/hari mampu meningkatkan kadar kolesterol secara bermakna.<sup>38</sup> Bawang putih cukup potensial untuk menurunkan progresivitas atherosklerosis melalui efek anti hiperlipidemik, antikoagulan, antioksidan dan anti agregasi platelet,<sup>39</sup> namun hal itu tidak tampak pada hasil penelitian yang menunjukkan bahwa pemberian minyak atsiri bawang putih (*Allium sativum*) belum memberi pengaruh terhadap peningkatan jumlah monosit kelompok P dibanding K2. Hasil ini diperkirakan karena pemberian minyak atsiri belum cukup lama untuk memberikan hasil yang diinginkan.

## **BAB 6**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **6.1. Kesimpulan**

Tidak terdapat perbedaan antara jumlah monosit pada darah tepi tikus wistar yang diberi minyak atsiri bawang putih (*Allium sativum*) dengan tikus wistar yang tidak diberi minyak atsiri. Pemberian minyak atsiri bawang putih (*Allium sativum*) sebagai antioksidan pencegah cedera endotel belum dapat dibuktikan dalam penelitian ini.

#### **6.2. Saran**

Saran peneliti untuk penelitian selanjutnya adalah:

1. Perlu dilakukan penelitian pendahuluan untuk mengetahui dosis terapi, dosis maksimal serta dosis toksik minyak atsiri bawang putih dan lama masa perlakuan yang dapat menaikkan jumlah monosit
2. Perlu dilakukan penelitian menggunakan metode induksi hiperlipidemia dan cedera endotel pada hewan coba yang lebih baik
3. Perlu ditambahkan pemeriksaan tambahan seperti pemeriksaan histopatologi terhadap pembuluh darah dan pemeriksaan kadar lipid darah pada hewan coba.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Almtsier S. Prinsip dasar ilmu gizi. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama;2001. h.296-301.
2. Rosendorf C, editor. Essential cardiology: principles and practice. 2<sup>nd</sup> ed. Totowa (NJ): Humana Press; 2005. p. 409-18.
3. Siswono. Peran gizi untuk cegah penyakit kardiovaskular [Online]. 9 Juli 2003. [disitasi 28 Nov 2007]. Available from:  
[URL: http://www.kompas.com/kompas-cetak/0307/08/iptek/425079.htm](http://www.kompas.com/kompas-cetak/0307/08/iptek/425079.htm)
4. Banerjee SK, Maulik SK. Effect of garlic on cardiovascular disorders: a review. Nutritionj [Online] 2002 Nov [cited 2009 Jan 18]; 1(4). Available from: [URL:http://www.nutritionj.com/content/1/1/4](http://www.nutritionj.com/content/1/1/4)
5. Sugihartuti R, Maslachah L. Efek perlindungan sel endothel oleh ekstrak air bawang putih (*Allium sativum* Linn.) pada hiperkolesterolemia. Jurnal Penelitian Media Eksakta [Online] 2003 Apr [disitasi 12 Des 2007]; 4:1. Available from:  
[URL:http://www.journal.unair.ac.id/login/jurnal/filer/J.%20Penelit.20Med.%20Eksakta%204-1%20April%202003%20%5B06%5D.pdf](http://www.journal.unair.ac.id/login/jurnal/filer/J.%20Penelit.20Med.%20Eksakta%204-1%20April%202003%20%5B06%5D.pdf)
6. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Bani AP, Sikumbang TM, editor. Biokimia harper. Edisi ke 25. Jakarta : EGC. 2003. h. 148-59,270-82.
7. Koolman J, Roehm KH. Color atlas of biochemistry. 2<sup>nd</sup> ed. New York (NY): Thieme; 2005. p. 46-56,172-3.
8. National Cholesterol Education Program. Adult Treatment Panel (ATP) III guidelines at-a -glance quick desk reference [Online]. 2001 Mei [cited 2009 Feb 23]; Available from:  
[URL:http://www.nhlbi.nih.gov/guidelines/cholesterol/atglance.pdf](http://www.nhlbi.nih.gov/guidelines/cholesterol/atglance.pdf)
9. Ross R. Atherosclerosis-an inflammatory disease. NEJM [Online] 1999 Jan [cited 2009 Jan 18]; 340:115-26. Available from:  
[URL:http://content.nejm.org/cgi/content/full/340/2/115](http://content.nejm.org/cgi/content/full/340/2/115)
10. Lam JY. Atherosclerosis: heart and blood vessel disorders: merck manual home edition. [Online]. 2008 [cited 2009 Jan 19]; Available from:  
[URL:http://www.merck.com/mmhe/sec03/ch032a.html](http://www.merck.com/mmhe/sec03/ch032a.html)

11. Prasetyo A, Sadhana U, Miranti IP. Profil lipid dan ketebalan dinding arteri abdominalis tikus wistar pada injeksi inisial adrenalin intra vena (IV) dan diet kuning telur intermitten. *Media Medika Indonesiana* 2000; 35:3.
12. Murray RK, Granner DK, Rodwell VW. Papadakis MA, MCP-1hee SJ, editors. *Harper's illustrated biochemistry*. 27<sup>th</sup> ed. McGraw hill; 2006.
13. Baynes JW, Dominczak MH. *Medical biochemistry*. 2<sup>nd</sup> ed. Esevier; 2007. p.209-24.
14. Adam JMF, Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S, editor. *Dislipidemia*. dalam: *Buku ajar ilmu penyakit dalam*. Edisi keempat. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2006. h. 1926-32.
15. Stepp DW, Ou J, Ackerman AW, Welak S, Klick D, Pritchard KA. Native LDL and minimally oxidized LDL differentially regulate superoxide anion in vascular endothelium in situ. *Aipheart* [Online] 2002 Mar [cited 2009 Feb 26]; 283: 750-9. Available from:  
URL:<http://aipheart.physiology.org/cgi/reprint/283/2/H750>
16. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Ahajournals* [Online] 2002 Mar [cited 2009 Jan 19]; 105:1135-43. Available from: URL:<http://circ.ahajournals.org/cgi/reprint/105/9/1135>.
17. Kasper DL, Fauci AS, Longo DL, Braunwald E, Hauser SL, Jameson JL, editors. *Harrison's principles of internal medicine*. 16<sup>th</sup> ed. New York: McGraw-Hill; 2005. p. 1425-30.
18. Warrell DA, Cox TM, Firth JD, Benz EJ, editors. *Oxford textbook of medicine*. 4<sup>th</sup> ed. Oxford University Press; 2003. p. 2798-09.
19. Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis and coronary artery disease. *NEJM* [Online] 2005 April [cited 2009 Jan 19]; 352:1685-95. Available from: URL:<http://content.nejm.org/cgi/content/full/352/16/1685>.
20. Price SA, Wilson LM. *Patofisiologi: konsep klinis proses-proses penyakit*. Edisi keempat vol 1. Jakarta: EGC; 1995. h. 244-63.
21. Hoffbrand AV, Pettit JE. *Kapita selekta hematologi (essential haematology)*. Edisi kedua Jakarta: EGC; 1996. h. 102-113.

22. S Diana dkk. Minyak sereh [Online] [disitasi 5 Des 2007]. Available from :  
URL:<http://www.bpkpenabur.or.id/jelajah/08/biologi1.htm>
23. Sumitra O. Memproduksi minyak atsiri biji pala. Jakarta: Departemen Pendidikan Nasional; 2003 h. 11-7.
24. Sunarto P, Pikir BS. Pengaruh garlic terhadap penyakit jantung koroner. Cermin Dunia Kedokteran [Online] 1995 [disitasi 12 Des 2007]; 102. Available from :  
URL:<http://www.kalbe.co.id/files/cdk/files/09PengaruhGarlic102.pdf/09PengaruhGarlic102.html>
25. Murray M. Garlic: for maximum benefit, choose the right product [Online] 2006 [cited 2009 Feb 24]; Available from:  
URL: <http://www.appliedhealth.com/nutri/page6999.php>
26. Amagase H. Clarifying the real bioactive constituents of garlic. The Journal of nutrition [Online] 2006 [cited 2009 Jan 23];136:716-25. Available from:  
URL: <http://jn.nutrition.org/cgi/reprint/136/3/716S>
27. World Health organization. Research guidelines for evaluating the safety and efficacy of herbal medicine. Manilla: Regional Office for the Western Pacific; 1993. h. 31-41.
28. Dahlan S. Seri statistik: statistika untuk kedokteran dan kesehatan uji hipotesis dengan menggunakan SPSS program 12 jam. Jakarta: Arkans; 2004.
29. Tiwari RL, Singh V, Barthwal MK. Macrophages: an elusive yet emerging therapeutic target of atherosclerosis. Medicinal Research Review. 2007; 28:483-544.
30. Kocaman SA, Arslan U, Tavit Y, Okuyan H, Abaci A, Cengel A. Increased circulating monocyte count is related to good collateral development in coronary artery disease. Elsevier [Online] 2008 [cited 2009 Jan 18]; 197:753-6. Available from:  
URL:<http://www.atherosclerosis-journal.com/article/PIIS0021915007004571/fulltext>
31. Musthafa Z, Lawrence GS, Seweang A. Intercellular adhesion molecule-1 sebagai prediktor atherosklerosis pada tikus wistar diabetes mellitus. Cermin Dunia Kedokteran [Online] 2001 [disitasi 18 Jul 2009]; 132:5-6. Available

from: [URL:http://www.kalbe.co.id/files/cdk/files/05Intercellularadhesionmolecule-1.pdf/05 IntercellularAdhesionMolecule-1.html](http://www.kalbe.co.id/files/cdk/files/05Intercellularadhesionmolecule-1.pdf/05%20IntercellularAdhesionMolecule-1.html)

32. Ohara Y, Peterson TE, Sayegh HS, Subramanian RR, Wilcox JN, Hanson PG. Dietary correction of hypercholesterolemia in the rabbit normalizes endothelial superoxide anion production. *AHA Journals* 1995 [cited 2009 Jan 19]; 92:898-903. Available from:  
URL: <http://circ.ahajournals.org/cgi/content/full/92/4/858>
33. Nutrition and calories in egg yolk [Online]. 2008 [cited 2009 aug 03]; Available from:URL:<http://www.calorie-counter.net/egg-calories/egg-yolk.htm>
34. Eckardstein AV, Nofer J, Assmann G. High density lipoproteins and Arteriosclerosis. *AHA Journals*[Online] 2001 [cited 2009 Jan 19]; 21:13. Available from:URL:<http://atvb.ahajournals.org/cgi/content/full/21/1/13>
35. Banerjee SK, Dinda KA, Manchanda SC, Maulik SK. Chronic garlic administration protects rat heart against oxidative stress induced by ischemic reperfusion injury. *AHA Journals* 2002; 2:16.

36. Swirski FK, Pittet MJ, Kircher MF, Aikawa E, Jaffer FA, Libby P, et al. Monocyte accumulation in mouse atherogenesis is progressive and proportional to extent of disease. PNAS [Online] 2006 [cited 2009 Aug 03]; 103:10340-5. Available from :  
URL: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1502459>
37. Van Lenten BJ, Hama SY, Beer de FC, Stafforini DM, McIntyre TM, Prescott SM, et al. Anti inflammatory HDL becomes pro inflammatory during acute phase response. JCI; 96:2758-67.
38. Anggraeni CD, Subandono J, Kustiwartini. Pengaruh pemberian angkak terhadap kadar kolesterol total darah tikus putih (*Ratus norvegicus*). Cermin Dunia Kedokteran: 2009; 168:94-5.
39. Tripathi K. A review-garlic,the spice of life. Asian J Research Chem 2009; 2:8-13.

## LAMPIRAN 1

### KADAR NORMAL LIPID MENURUT NCEP ATP III

#### Kolesterol Total

< 200 mg/dL	Optimal
200-239 mg/dL	Diinginkan
$\geq$ 240 mg/dL	Tinggi

---

#### Kolesterol HDL (*High Density Lipoprotein*)

< 40 mg/dL	Rendah
$\geq$ 60 mg/dL	Tinggi

---

#### Kolesterol LDL (*Low Density Lipoprotein*)

< 100 mg/dL	Optimal
130-129 mg/dL	Mendekati optimal
130-159 mg/dL	Diinginkan
160-189 mg/dL	Tinggi
$\geq$ 190 mg/dL	Sangat tinggi

---

#### Trigliserid

< 150 mg/dL	Optimal
150-199 mg/dL	Diinginkan
200-499 mg/dL	Tinggi
> 500 mg/dL	Sangat tinggi



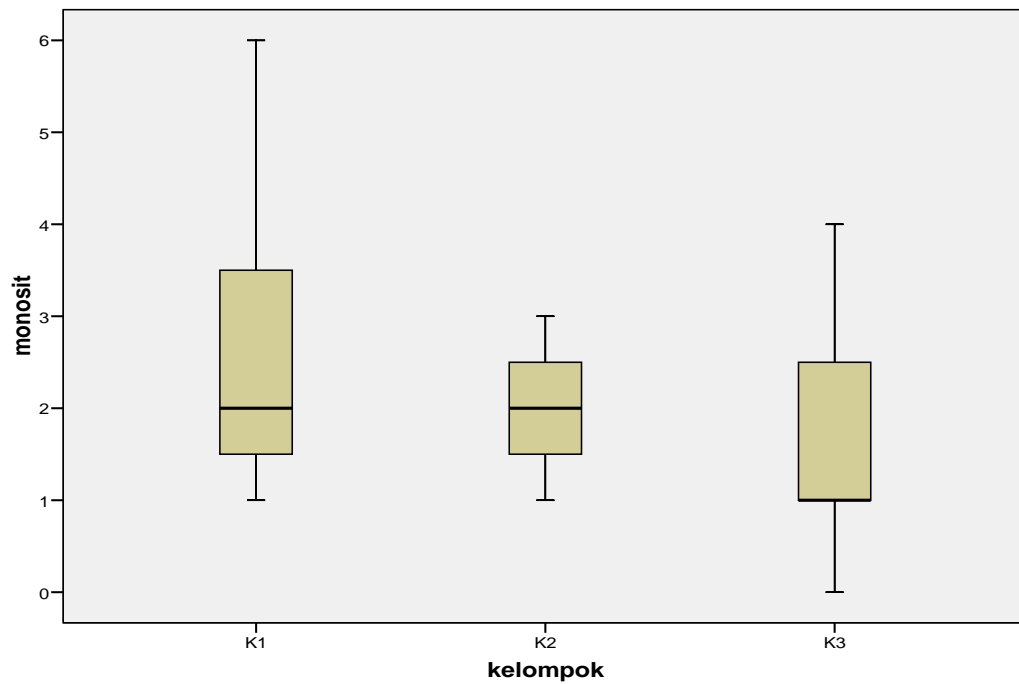
## LAMPIRAN 2

### ANALISIS STATISTIK

#### 1.1. Analisis Statistik dari Data Jumlah Monosit

Tabel 1.1.1 Data dari Jumlah Monosit

Sampel	Kontrol Negatif (K1)	Kontrol Positif (K2)	Perlakuan (P)
1	6	1	1
2	1	2	0
3	2	3	4
4	4	2	1
5	1	2	3
6	3	1	1
7	2	3	2



Gambar 1.1.1 Boxplot dari Jumlah Monosit

Tabel 1.1.2 Tes Normalitas

**Tests of Normality**

kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
monosit K1	.226	7	.200*	.893	7	.292
K2	.214	7	.200*	.858	7	.144
K3	.269	7	.135	.918	7	.456

\*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Tabel 1.1.3 Tes Homogenitas Varians Data

**Test of Homogeneity of Variances**

monosit

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.042	2	18	.159

Tabel 1.1.4 Uji *One Way Anova*

**ANOVA**

monosit

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3.714	2	1.857	.959	.402
Within Groups	34.857	18	1.937		
Total	38.571	20			

Tabel 1.1.5 Deskripsi untuk jumlah monosit

Descriptives

kelompok			Statistic	Std. Error		
monosit	K1	Mean	2.71	.680		
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound Upper Bound	1.05 4.38		
		5% Trimmed Mean	2.63			
		Median	2.00			
		Variance	3.238			
		Std. Deviation	1.799			
		Minimum	1			
		Maximum	6			
		Range	5			
		Interquartile Range	3			
		Skewness	1.074	.794		
		Kurtosis	.701	1.587		
			K2	Mean	2.00	.309
				95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound Upper Bound	1.24 2.76
				5% Trimmed Mean	2.00	
Median	2.00					
Variance	.667					
Std. Deviation	.816					
Minimum	1					
Maximum	3					
Range	2					
Interquartile Range	2					
Skewness	.000			.794		
Kurtosis	-1.200			1.587		
	K3			Mean	1.71	.522
				95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound Upper Bound	.44 2.99
				5% Trimmed Mean	1.68	
		Median	1.00			
		Variance	1.905			
		Std. Deviation	1.380			
		Minimum	0			
		Maximum	4			
		Range	4			
		Interquartile Range	2			
		Skewness	.706	.794		
		Kurtosis	-.325	1.587		

## LAMPIRAN 3

### PEMBUATAN PREPARAT DARAH HAPUS

#### I. Pengambilan Sampel Darah

##### Alat:

1. Sduit
2. Tabung reaksi
3. Toples
4. Papan lilin
5. Jarum
6. Pinset
7. Scapel

##### Bahan:

1. Ethylen Diamine Tetraacetic Acid (EDTA)
2. Eter
3. Kapas

##### Cara Kerja:

1. Membius tikus yang akan diambil darahnya dengan memasukkan tikus kedalam toples yang berisi kapas yang dibasahi dengan eter
2. Meletakkan tikus pada papan lilin dan memfiksasi dengan menusukkan jarum pada keempat kaki tikus

3. Membuka dinding perut luar dan selanjutnya mengangkat peritoneum untuk menemukan aorta abdominalis
4. Menusukkan jarum spuit pada aorta abdominalis dengan sudut  $45^{\circ}$  kemudian menarik ujung spuit untuk menghisap darah sebanyak 3cc
5. Memindahkan darah dari spuit ke dalam tabung yang berisi EDTA dan menutup rapat tabung tersebut

## II. Membuat Preparat Darah Hapus

Alat:

1. Obyek glass yang bersih
2. *Spreader*/ penggeser
3. Pipet darah dan pengaduk
4. Bak pengecatan
5. Bak pengeringan
6. Timer
7. Gelas ukur

Bahan:

1. Sampel darah EDTA
2. Methanol 90%
3. Larutan giemsa
4. Air
5. Lacquer

#### Cara Kerja:

1. Mengambil obyek glass yang bersih, dan meletakkan satu tetes darah di samping kanan
2. Menyentuh tetesan darah dengan spreader, kemudian darah akan melebar sepanjang spreader
3. Mendorong spreader ke arah kiri dengan sudut  $45^\circ$  , kemudian mengeringkan di udara, lalu mengamati kualitas preparat, dinilai baik bila: tipis, rata, ekor tidak robek, bentuk seperti peluru
4. Memfiksasi dengan methanol 90% selama 10 menit
5. Membuat larutan giemsa kerja dari giemsa stock dan buffer sorensen dengan perbandingan 1:9 untuk buffernya
6. Menggenangi preparat dengan larutan giemsa selama 15 menit setelah itu mencuci dengan air mengalir, dan mengeringkan di udara
7. Mengolesi dengan lacquer setelah kering

#### III Membaca Preparat darah Hapus

1. Meletakkan preparat darah hapus dibawah lensa obyektif pada deck mikroskop
2. Mengidentifikasi sel monosit menggunakan pembesaran obyektif sebesar 40 x
3. Menghitung jumlah monosit pada 100 sel leukosit dan mencatat hasil penghitungan dalam persen

## LAMPIRAN 4

### CARA PENENTUAN DOSIS MINYAK ATSIRI *Allium sativum*

Dosis pemberian minyak atsiri *Allium sativum* didapatkan dari perhitungan dosis sebagai berikut:

1. Dosis terapi pada manusia (70 kg): Minyak atsiri yang didapat dari 1 gram *Allium sativum* segar/kg BB/hari,<sup>24</sup> setara dengan 70 gram/hari.
2. *Allium sativum* segar mengandung kurang lebih 1% minyak atsiri atau sekitar 0,01 ml minyak atsiri dari 1 gram *Allium sativum* segar. Jadi dosis terapi manusia setara dengan 0,7 ml minyak atsiri/hari.
3. Faktor konversi tikus wistar (200 gram) dibanding manusia (70 kg) adalah 0,018.
4. Jadi, dosis terapi pada tikus wistar setelah dikonversikan adalah 0,018 x dosis terapi minyak atsiri *Allium sativum* pada manusia setara dengan 0,0126 ml/hari.
5. Peneliti menggunakan pipet dalam pemberian minyak atsiri.